

カニューレを挿入して、心房内圧を上げて人工的生理液を灌流した。正常液から酵素を融解した灌流液に移行し、細胞を単離した。現在、その分離方法が確立してきたので、今後、データはサル使用頻度に大きく依存する。

このように単離した洞房結節細胞を用いて、パッチクランプ実験を行なっている。一般的な電位依存性の膜イオンチャネル電流を解析するとともに、洞房結節細胞に特徴ある電流の同定と解析を行なっている。基本的な電位依存性電流の取得には成功している。これまで、多種属の洞房結節細胞の自動能イオン電流機序を解明してきたが、動物種により電流系が異なることが判明してきた。この研究では、今のところ、まだ大きな差異は見つかっていない。

この結果は、ヒト洞房結節の自動能機構にも反映され、臨床的にも洞性不整脈を含めた疾患治療に大いに役立つことが期待される。

自由 25

アカゲザルの ICSI による人工繁殖の検討

鈴木智草 (近畿大・生物理工・発生)・細井美彦 (近畿大・生物理工・発生)・
清水慶子 (京都大・霊長研・器官調節)・入谷 明 (近畿大・生物理工・発生)

雌アカゲザルにリュ・ブリン、FSH を投与後、卵巣回収から 24 時間前に hCG 投与・非投与し、卵巣を回収した。卵巣から未成熟卵子 (Germinal Vesicle, GV) を回収し、GV 期から MI 期 (Metaphase I) を経て、MII 期 (Metaphase II) に成熟するまで培養した。GV 期から MII 期に成熟するのに、通常、卵子の回収から 40 - 48 時間を必要するとされている。hCG を投与した場合、卵子回収から 40 時間後では、MII 期 0% (0/27)、MI 期 44% (12/27)、GV 期 48% (13/27) の割合であった。その後も観察を続けたが、いずれの卵子も MII 期にはならなかったため、72 時間後まで継続培養した結果、MI 期の卵子 12 個はすべて MII 期に成熟した。それらの卵子を用いて、顕微授精を行ったが、いずれの卵子も発生しなかった。また、hCG を投与しなかった場合、40 時間成熟培養をした結果、MII 期 0% (0/11)、MI 期 9% (1/11)、GV 期 91% (10/11) であった。その後も継続培養をしたが、いずれの卵子も MII 期には成熟しなかった。本実験では、卵子の成熟培養が順調に進行しなかったが、前年度の結果では、卵子回収から 40 時間後に MII 期卵子に成熟し、顕微授精後、胚盤胞期胚まで発生したことから、成熟時間に問題はないように思われた。これは卵巣を供試する雌アカゲザルの個体差が原因であると思われた。サル卵子の体外培養については、検討していく必要があることが示唆された。

自由 27

チンパンジーのメスの性周期に伴うフェロモンの同定

林 由佳子 (京都大・食糧科学研)・松本晶子 (京都大・霊長研)

フェロモンは同種の動物の異なる個体間で交わされる化学的信号で、哺乳類の生殖に特に重要な役割を果たしている。霊長研の 4 頭のメスを対象とし、最低 1 回の発情周期を含む 40 日の期間について週 3 回、性皮 (特に膣) 付近を 30% エタノール溶液を含ませた綿棒にてふき取り、資料を凍結保存後、京都大学食糧研において資料から粘液とフェロモンを構成する臭気物質 (C2~C5 脂肪酸) 量をガスクロマトグラフィーを用いて定量した。

分析の結果、排卵期になると一部の低級脂肪酸の量が変化し、その変化が化学的信号として中枢神経系に伝達され、大脳辺縁系や視床下部の機能に影響を与えている可能性が示唆される。

オスはこれを手がかりに排卵期のメスに接近することが可能であるかもしれない。今後、行動のデータとの併用が必要である。

自由 28

雌ニホンザルの月経周期中における各種インヒビン濃度の変化

田谷一善・金万洙（東京農工大・農・家畜生理）・

伊藤麻里子・清水慶子（京都大・霊長研）

インヒビンは、 α 鎖と β 鎖が結合した2量体であり、インヒビンの β 鎖に βA と βB の2種類が存在することから、 α 鎖と βA 鎖の結合したインヒビンAと α 鎖と βB 鎖の結合したインヒビンBに分類される。これまで、インヒビンの測定に関しては、ラジオイムノアッセイを用いてきたことから、測定値は、全てのインヒビンを含んだトータルインヒビンとして標示された。しかし、近年、インヒビンAとインヒビンBの分離測定が可能なエンザイムイムノアッセイ法が開発され、インヒビンAとインヒビンBに分離して解析が可能となった。本共同研究では、ニホンザルの月経周期中およびそれに引き続く妊娠中の血中インヒビン濃度をインヒビンAとインヒビンBに分離して測定した。その結果、月経周期中では、卵胞期にはインヒビンBが高く、黄体期ではインヒビンAが高い傾向が認められた。妊娠中では、妊娠の経過と共に血中インヒビンAとインヒビンB濃度が、次第に上昇する事実が明らかとなった。いずれのインヒビンも、分娩後は速やかに妊娠前のレベルまで低下した。血中濃度は、インヒビンAがインヒビンBに比較して高い値を示した。以上の結果から、ニホンザルでは、卵胞顆粒層細胞からインヒビンBが、黄体細胞からは、インヒビンAが、また胎盤からは、インヒビンAとインヒビンBの2種類のインヒビンが分泌されるものと推察された。

自由 29

RAPD-PCR 法による種属鑑別法の検討

石河 淳（福岡県警科捜研）・辻 彰子・池田典昭（九州大・医・法医学）

犯罪現場に遺留された、血痕、組織片等からその種属および個人を識別することは、犯人を絞り込む際の捜査情報、あるいは、犯罪を立証する科学的証拠となることから、犯罪鑑識において極めて重要である。RAPD (Random Amplified Polymorphic DNA) -PCR 法による種属鑑別法について、ヒト、サル、イヌ、ネコ、ウシ、ブタ、ニワトリの7種の動物で検討を行ったところ、RAPD 解析用プライマー (RAPD Analysis Primer Set: ファルマシア社製) を用いたPCR増幅産物を電気泳動し、バンドパターンを比較することで上記7種の動物が識別可能であった。

今回、上記手法により得られるヒトのバンドパターンの特異性を検証するため、5種の霊長類（チンパンジー、シロテテナガザル、ニホンザル、カニクイザル、アカゲザル各2個体）を上記手法により解析し、ヒトのバンドパターンと比較した。

その結果、ヒトと5種の霊長類のバンドパターンには明瞭な差異が認められ、ヒトのバンドパターンの特異性が証明された。

なお、5種の霊長類のバンドパターンには、酷似しているもの（カニクイザルとアカゲザル等）が認められ、それぞれの種を明確に識別することはできなかった。